

参考文献

- 1 Grashoff C, Thievensen I, Lorenz K, et al. Integrin-linked kinase: integrin's mysterious partner [J]. *Curr Opin Cell Biol*, 2004, 16 (5): 565 - 571
- 2 Ebihara Y, Kato S, Oshika T, et al. Posterior capsule opacification after cataract surgery in patients with diabetes mellitus [J]. *J Cataract Refract Surg*, 2006, 32 (7): 1184 - 1187
- 3 Walker J, Menko AS. Integrins in lens development and disease [J]. *Exp Eye Res*, 2008, 11: 1 - 10
- 4 Han SY, Kang YS, Jee YH, et al. High glucose and angiotensin II increase β_1 integrin and integrin-linked kinase synthesis in cultured mouse podocytes [J]. *Cell Tissue Res*, 2006, 323 (2): 321 - 332
- 5 Ohnishi M, Hasegawa G, Yamasaki M, et al. Integrin-linked kinase acts as a pro-survival factor against high glucose-associated osmotic stress in human mesangial cells [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2006, 21 (7): 1786 - 1793
- 6 Liu XC, Liu BC, Zhang XL, et al. Role of ERK1/2 and PI3-K in the regulation of CTGF-induced ILK expression in HK-2 cells [J]. *Clin Chim Acta*, 2007, 382 (1 - 2): 89 - 94
- 7 Bras ID, Colitz CM, Kusewitt DF, et al. Evaluation of advanced glycation end-products in diabetic and inherited canine cataracts [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2007, 245 (2): 249 - 257
- 8 Harper JW, Elledge SJ, Keyomarsi K, et al. Inhibition of cyclin-dependent-kinases by p21 [J]. *Mol Biol Cell*, 1995, 6 (4): 387 - 400
- 9 Tkachov SI, Lautenschläger C, Ehrlich D, et al. Changes in the lens epithelium with respect to cataractogenesis-Light microscopic and Scheimpflug densitometric and the cataractous and the clear lens of diabetics and non-diabetics [J]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2006, 244 (5): 596 - 602
- 10 胡建章, 庄铭忠, 徐国兴, 等. STZ-糖尿病大鼠晶状体上皮细胞 HSP70 的表达及增殖、凋亡的动态研究 [J]. *福建医科大学学报*, 2004, 2: 128
- 11 Somasiri A, Howarth A, Goswami D, et al. Overexpression of the integrin-linked kinase mesenchymally transforms mammary epithelial cells [J]. *J Cell Sci*, 2001, 114 (6): 1125 - 1136
- 12 Duxbury MS, Ito H, Benoit E, et al. RNA interference demonstrates a novel role for integrin-linked kinase as a determinant of pancreatic adenocarcinoma cell gemcitabine chemoresistance [J]. *Clin Cancer Res*, 2005, 11 (9): 3433 - 3438
- 13 Yau CY, Wheeler JJ, Sutton KL, et al. Inhibition of integrin-linked kinase by a selective small molecule inhibitor, QLT0254, inhibits the PI3K/PKB/mTOR, Stat 3, and FKHR pathways and tumor growth, and enhances gemcitabine-induced apoptosis in human orthotopic primary pancreatic cancer xenografts [J]. *Cancer Res*, 2005, 65 (4): 1497 - 1504
- 14 Weaver MS, Toida N, Sage EH. Expression of integrin-linked kinase in the murine lens is consistent with its role in epithelial-mesenchymal transition of lens epithelial cells in vitro [J]. *Mol Vis*, 2007, 13: 707 - 718
- 15 杜倩, 周健, 惠延年, 等. 高浓度葡萄糖体外对人晶状体上皮细胞整合素连接激酶表达的影响 [J]. *国际眼科杂志*, 2008, 8 (4): 676 - 678

(收稿: 2008-12-31 修回: 2009-03-26)

(本文编辑: 高红)

· 短篇论著 ·

家兔 PVR 模型中玻璃体 IL-1 和 TNF- α 质量浓度的变化

李维义 高晓唯 田艳明 贾媛媛 董晓云 刘海俊 余惠芳

增生性玻璃体视网膜病变 (proliferative vitreoretinopathy, PVR) 是由于视网膜色素上皮 (retinal pigment epithelium, RPE) 细胞、神经胶质细胞、成纤维细胞以及炎性细胞的增生在玻璃体和视网膜形成收缩膜, 牵拉视网膜所致, 是视网膜脱离手术失败的主要原因, 也是眼外伤、糖尿病及血管性、炎症性视网膜病变的一种结局^[1-2]。本实验建立与临床 PVR 病例接近的动物模型, 利用眼 B 型超声评价 PVR 模型的级别, 以研究白细胞介素-1 (IL-1)、TNF- α 质量浓度在 PVR 模型发生过程中的变化过程, 为本课题的后续研究提供依据。

1 材料与方

1.1 PVR 动物模型的建立^[3]

1.1.1 富含血小板的血浆 (platelet-rich plasma, PRP) 的制备 用含 3.8% 枸橼酸钠的玻璃离心管收集健康日本大耳白兔耳缘静脉血, 室温下以 50 g 离心 10 min, 取 1/3 上清液, 获得血小板密度为 $5 \times 10^5 \sim 10 \times 10^5$ /mL 的 PRP。

1.1.2 实验分组及模型制作 选 2~3 kg 健康有色家兔 72 只

(购自新疆实验动物中心), 均取右眼为实验眼, 以随机数字表法将动物随机分为 A、B、C 3 组。A 组兔散瞳, 1% 丁卡因滴眼液表面麻醉, 前房穿刺, 玻璃体腔注入 20 U/mL 透明质酸酶 0.1 mL。于颞下象限制成约 2 个视盘直径 (PD) 大小的视网膜裂孔, 经视网膜在玻璃体腔中央注入 0.1 mL 的 PRP (约含 70 000 个血小板)。B 组兔经视网膜在玻璃体腔中央部注入 0.1 mL 的 PBS, 其他操作同 A 组。C 组为正常对照组。

1.2 观察指标与取材

1.2.1 实验观察 隔日裂隙灯及直接检眼镜检查兔眼, 每周用眼 B 型超声检查, 记录眼底情况, 模型眼 PVR 判定采用文献 [4] 的方法分为 I~VI 级。

1.2.2 取材 模型制作后第 1、2、3、4 周每组处死 6 只动物并摘除眼球, 一半眼球固定于 10% 中性甲醛液, 行苏木精-伊红染色; 另一半眼球在液氮中保存, ELASA 法测定 IL-1、TNF- α 在玻璃体中的质量浓度。

1.2.3 ELASA 检测 按照兔 IL-1 (美国 BPB Biomedicals 公司)、兔 TNF- α (北京中昊时代生物技术中心) 定量酶联检测试剂盒使用说明书进行。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 13.0 统计学软件对所有数据进行统计学分析。

本课题为兰州军区卫生基金项目资助 (LXH-2006016)

作者单位: 510318 广州, 中国人民解放军第 421 医院眼科 (李维义、刘海俊、余惠芳); 813002 乌鲁木齐, 中国人民解放军第 474 医院眼科 全军眼科中心 (高晓唯、贾媛媛、田艳明、董晓云)

通讯作者: 高晓唯 (Email: gxwgaowx@263.net)

2 结果

2.1 直接检眼镜及眼 B 型超声检查结果

A 组术后可见玻璃体呈雾状混浊, B 型超声检查显示术后 4~6 d 玻璃体中形成灰白色细小团块状物及条索, 2 周出现局部视网膜增生性牵拉, 髓线局部的视网膜脱离, 4 周后形成 IV 级以上 PVR (图 1)。B 组 2 只眼出现视网膜的局限性增生。C 组玻璃体及视网膜正常。各时间点各级 PVR 的眼数分布见表 1。

表 1 各时间点动物处死时眼底 PVR 分级 (眼数)

术后时间 (周)	A 组不同级别眼数						B 组不同级别眼数						C 组不同级别眼数					
	I	II	III	IV	V	VI	I	II	III	IV	V	VI	I	II	III	IV	V	VI
1	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	3	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	3	2	1	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	1	2	3	1	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

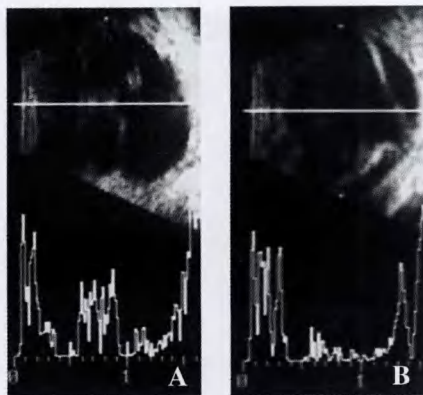


图 1 PVR 的 B 型超声检查 A: 玻璃体形成灰白色细小团块状物及条索 B: PVR 形成及视网膜脱离

2.2 玻璃体视网膜组织学检查

A 组: 术后 1 周 4 只眼 (4/6) 出现部分视网膜神经感觉层与色素上皮层浅分离, 玻璃体少量细胞成分和间质结缔组织, 局部炎性细胞浸润; 2~3 周 6 只眼 (6/6) 视网膜神经感觉层分离, 内外节结构紊乱、断裂, 外核层细胞水肿, 玻璃体中较

多炎性细胞成分和间质结缔组织; 第 4 周 6 只眼 (6/6) 视网膜神经感觉层脱离, 玻璃体中有多种细胞成分和间质结缔组织。B 组 2 只眼出现视网膜神经感觉层浅脱离, 玻璃体内少量细胞成分和间质结缔组织。C 组玻璃体和视网膜结构正常。

2.3 ELASA 检测结果

PVR 模型组动物玻璃体 IL-1、TNF- α 质量浓度与 PVR 分

表 2 各时间点玻璃体 IL-1 和 TNF- α 质量浓度变化 ($\bar{x} \pm s$)

术后时间 (周)	IL-1 (pg/mL)	TNF- α (μ g/mL)
0	44.2 \pm 9.6	90.5 \pm 65.0
1	681.8 \pm 195.6	343.5 \pm 44.2
2	1 073.7 \pm 190.4	310.7 \pm 37.9
3	842.1 \pm 175.1	279.2 \pm 98.6
4	767.2 \pm 272.0	285.7 \pm 32.8
F	24.819	16.008
P	0.000	0.000

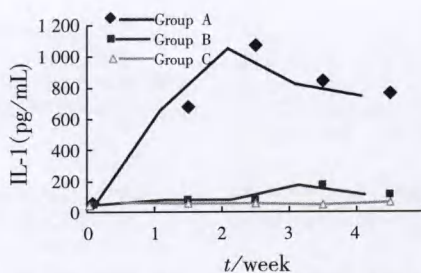


图 2 各时间点玻璃体 IL-1 质量浓度变化

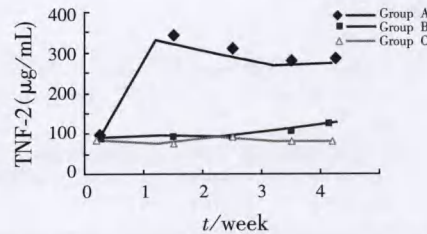


图 3 各时间点玻璃体 TNF- α 质量浓度变化

级的关系经 Pearson 直线相关分析表明呈正相关 ($r_1 = 0.735, P_1 = 0.000; r_2 = 0.527, P_2 = 0.003$) (表 2)。B 组、C 组 IL-1 及 TNF- α 质量浓度无明显变化 (图 2, 3)。

3 讨论

本实验中玻璃体腔注射透明质酸酶后制作视网膜裂

孔并在玻璃体腔注入 PRP 造成 PVR 模型, 操作较为简单, 损伤少, 第 4 周时模型均达到 PVR IV 级以上。

本模型炎症期 (7 d 内), 玻璃体中 IL-1 及 TNF- α 质量浓度明显增加。增生期 (14~21 d) IL-1 质量浓度进一步增加, 14 d 达峰值, 以后逐渐缓慢下降, TNF- α 则保持较高水平, 在 28 d (瘢痕期) 玻璃体内两者质量浓度均较高, 其变化与 PVR 病理学变化及眼部 B 型超声检查相一致。本实验应用透明质酸酶来降解玻璃体内的透明质酸, 使玻璃体液化, 以利于视网膜色素上皮细胞的移行和增生。PRP 中含有大量的生长因子和其他活性介质, 能促进内源性细胞的增生和移行。日本大耳白兔的 PRP 注入有色家兔的玻璃体腔产生的免疫炎症反应进一步促进 PVR 的形成^[3]。本研究结果显示: IL-1 与 PVR 的发生呈正相关, TNF- α 可能促进 PVR 的进展。

本研究成功制备增生性玻璃体视网膜病动物模型, 研究了 IL-1 及 TNF- α 在本模型的发展过程中的变化规律, 为课题组进一步研究 IL-1 及 TNF- α 的上游信号通路 NF- κ B 在实验性 PVR 的发生发展中的作用提供了基础。进一步的工作拟研究应用无功能 Myd88 抑制 NF- κ B 的活化, 阻止 PVR 的进展。

参考文献

- Nagasaki H, Shinagawa K, Moehizuki M. Risk factors for proliferative vitreoretinopathy [J]. Prog Retin Eye Res, 1998, 17: 77-98
- Pastor PC. Proliferative vitreoretinopathy: an overview [J]. Surv Ophthalmol, 1998, 43: 3-18
- 万光明. 一种新的 PVR 模型的制作与评价 [J]. 中国实用眼科杂志, 2003, 21 (2): 148-149
- Fasternberg DM, Diddie KR, Sorgente N, et al. A comparison of different cellular inoculum in an experimental model of massive periretinal proliferation [J]. Am J Ophthalmol, 1982, 93: 559-572
- 冯学峰, 惠延年. IL-1 β 在实验性增生性玻璃体视网膜病变动物模型中的作用 [J]. 眼科新进展, 2003, 23 (1): 5-7

(收稿: 2009-02-11)

(本文编辑: 尹卫靖)